



MINISTRE DES AFFAIRES ECONOMIQUES

NUMERO DE PUBLICATION : 1012546A6

NUMERO DE DEPOT : 09900164

Classif. Internat. : A61K

Date de délivrance le : 05 Décembre 2000

---

Le Ministre des Affaires Economiques,

Vu la loi du 28 Mars 1984 sur les brevets d'invention, notamment l'article 22;

Vu l'arrêté royal du 2 Décembre 1986 relatif à la demande, à la délivrance et au maintien en vigueur des brevets d'invention, notamment l'article 28;

Vu le procès verbal dressé le 10 Mars 1999 à 12H00 à l'Office de la Propriété Industrielle

ARRETE:

112

ARTICLE 1.- Il est délivré à : MESSADEK Jallal  
Place des Béguinages 2, B-4000 LIEGE(BELGIQUE)

un brevet d'invention d'une durée de 6 ans, sous réserve du paiement des taxes annuelles, pour : LA BETAINÉ ET SES DERIVÉS POUR LEUR USAGE ANTITHROMBOTIQUE.

ARTICLE 2.- Ce brevet est délivré sans examen préalable de la brevetabilité de l'invention, sans garantie du mérite de l'invention ou de l'exactitude de la description de celle-ci et aux risques et périls du(des) demandeur(s).

Bruxelles, le 05 Décembre 2000  
PAR DELEGATION SPECIALE :

## LA BÉTAÏNE ET SES DÉRIVÉS POUR LEUR USAGE ANTITHROMBOTIQUE.

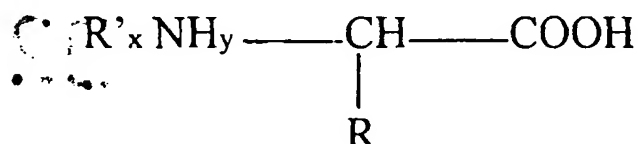
5

10 L'invention consiste en l'utilisation de la bétaine et ses dérivés pour éliminer les atteintes physiopathologiques cardio-vasculaires.

L'invention se rapporte à l'activité curative et préventive de la bétaine et ses dérivés dans la pathogénie des maladies thromboemboliques et hémostatiques d'origine artérielles ou veineuses.

15 L'invention consiste en l'utilisation comme agent thérapeutiquement actif, contre les atteintes physiopathologiques cardio-vasculaires et la pathogénie des maladies thromboemboliques et hémostatiques, un acide aminé mono, bi ou triméthylé à l'extrémité N-terminale et se représentant sous la formule générale:

20



25

OU:

R' = CH<sub>3</sub>

R = chaîne latérale carbonée

x = 1, 2 ou 3

30

si x = 1 =&gt; y = 2

si x = 2 =&gt; y n'existe pas

si x = 3 =&gt; Hy n'existe pas

35

Les résultats expérimentaux ont été remarquablement vérifiés dans le cas de la bétaine ainsi que dans les cas de la glycine bétaine, de la proline bétaine, de l'homarine, de la carnitine, de la térgonelline, de la lysine bétaine, de la butyro bétaine, toutes ces molécules revendiquant selon l'invention une activité thérapeutique pour traiter les accidents de la circulation sanguine dans le corps humain. Ces molécules ne sont énumérées qu'à titre d'exemple pour leur efficacité antithrombotique et ne doivent pas limiter la portée de l'invention.

40

L'intérêt suscité par les pathologies thromboemboliques ces dernières années a permis d'incriminer plusieurs facteurs :

- Le vaisseau : la paroi vasculaire et les cellules endothéliales

- Le rôle des éléments figurés du sang

45

- Les systèmes de coagulation, de fibrinolyse et leurs inhibiteurs.

L'invention consiste en ce que la bétaine et ses dérivés exercent une activité tant à l'état préthrombotique qu'à l'état post-thrombotique. En effet, la bétaine et ses dérivés ont une

activité préventive en empêchant la formation des thrombi et une activité curative en inhibant la thrombose. L'intérêt de l'invention réside dans le fait que l'utilisation de la bétaine et ses dérivés ne présente aucun risque hémorragique par opposition aux molécules et traitements actuellement utilisés.

Les thromboses vasculaires sont une réponse de l'organisme face à l'agression de la paroi du vaisseau et de son contenu cellulaire et plasmatique. La thrombose est une masse organisée d'éléments sanguins (plaquettes, globules rouges et globules blancs), de fibrine et d'autres protéines plasmatiques, qui est déposée à la surface ou qui obstrue la lumière du système cardio-vasculaire. Les mécanismes de la thrombose ressemblent à ceux de l'hémostase, mais sont pathologiques par la localisation intravasculaire anormale.

Les thromboses et les embolies sont la cause principale des complications cliniques des maladies cardio-vasculaires et de l'athérosclérose.

Il existe plusieurs types de thromboses qui peuvent survenir au niveau des artères, des veines, de la microcirculation des organes, des cavités du cœur et des surfaces artificielles en contact avec le sang. Les thromboses vasculaires sont une réponse de l'organisme à l'agression de la paroi du vaisseau et de son contenu cellulaire et plasmatique. La thrombose est une masse organisée d'éléments sanguins (plaquettes, globules rouges et globules blancs), de fibrine et d'autres protéines plasmatiques, qui est déposée à la surface ou qui obstrue la lumière du système cardio-vasculaire. Les mécanismes de la thrombose ressemblent à ceux de l'hémostase, mais sont pathologiques par la localisation intravasculaire anormale.

Les thromboses et les embolies sont la cause principale des complications cliniques des maladies cardio-vasculaires et de l'athérosclérose.

Il existe plusieurs types de thromboses qui peuvent survenir au niveau des artères, des veines, de la microcirculation des organes, des cavités du cœur et des surfaces artificielles en contact avec le sang.

D'après Virchow, au moins trois types de facteurs thrombogènes déterminent la localisation, l'extension et la régression d'une thrombose :

- Les facteurs hémodynamiques et rhéologiques;
- La lésion endothéliale;
- L'activation des constituants du sang, en particulier des plaquettes et de la coagulation qui aboutit à la formation de thrombine.

La maladie thromboembolique, d'origine artérielle ou veineuse reste la cause principale de décès dans les pays développés.

La thrombose artérielle est souvent une complication de l'athérosclérose alors que la thrombose veineuse résulte plus fréquemment d'un déficit en un inhibiteur de la coagulation et de la fibrinolyse ou d'une stase. En effet, si tous les deux résultent d'une interaction entre le sang et la paroi vasculaire, la formation d'une thrombose veineuse et/ou par une anomalie de l'hémostase. La thrombose artérielle est le plus souvent secondaire à une anomalie pariétale et implique principalement les plaquettes sanguines. Elle contribue à une large variété de tableaux cliniques selon les lits artériels intéressés par l'interruption de la vascularisation. La thrombose peut atteindre principalement les artères cardiaques (coronaires), les artères des membres inférieurs, cérébrales ou digestives. Ainsi, la maladie artérielle favorise la formation du thrombus lui même responsable de la majorité des occlusions vasculaires terminales. De plus la participation du désordre de l'hémostase et du thrombus formé à d'autres lésions vasculaires est manifeste : aggravation des lésions de la paroi, ischémie et troubles de la microcirculation.

On peut distinguer trois stratégies thérapeutiques dans la prévention des accidents liés aux thromboses.

Les anticoagulants. Ils constituent l'élément majeur de la prise en charge d'un patient présentant une affection thromboembolique. L'héparine et ses dérivées sont couramment utilisés. Cependant, l'utilisation des héparines peut engendrer deux complications majeures, l'hémorragie ou la thrombopénie.

Les anti-vitamines K (AVK). Prescrites pour des traitements au long cours, elles ne peuvent être utilisées dans l'urgence et ne peuvent être prescrites simultanément avec d'autres anti-agrégants dont elles potentialisent l'effet hémorragique.

Les anti-agrégants plaquetaires. Prescrits pour prévenir la thrombose artérielle liée à l'athérosclérose. Actuellement les principaux inhibiteurs du fonctionnement plaquettaire prescrits sont l'aspirine, la ticlopidine, le dipyridamole, et certains anti-inflammatoires non stéroïdiens comme le flurbiprofène, la prostacycline. Ces traitements possèdent une réelle efficacité tout en présentant des effets indésirables sur les patients à terrains allergiques ou hémorragiques.

Tous ces traitements malgré leur efficacité nécessitent des précautions particulières dans leurs utilisations, telles que l'administration d'antidotes, les problèmes de surdosages et les effets secondaires non désirables. Il était donc intéressant de trouver des molécules ou des familles de molécules à haut potentiel antithrombotique sans effets indésirables.

La bétaine et ses dérivés tout en possédant un haut potentiel d'efficacité contre les risques thromboemboliques, ne présentent aucun effet indésirable. En effet, les résultats expérimentaux liés à la toxicité de ces molécules démontrent leur parfaite innocuité.

- Aucune toxicité par voie orale, intraveineuse et intrapéritonéale
- Aucun effet sensibilisant
- Aucun effet allergique
- Aucun effet phototoxique ou photoallergique
- Aucune toxicité cutanée ou oculaire.

Il apparaît donc que la bétaine et ses dérivés peuvent être utilisés pour diverses applications cliniques telles que :

- les maladies cardio-vasculaires (infarctus, angine de poitrine, anévrisme, athérosclérose, embolie pulmonaire, phlébite, insuffisance cardiaque),
- Les accidents de circulation sanguine dans le cerveau et leur prévention,
- les chocs post-traumatiques d'origine chirurgicale ou non.
- La prévention des accidents de microcirculation dans les cas suivants : diabète, hémophilie, chimiothérapie, âge, contraception orale par les oestrogènes, obésité, tabagisme, prothèse.
- La prévention des risques liés à l'administration des produits de contraste ioniques et non ioniques.

## MATERIEL ET METHODE

### A/ Principe

Dans ce modèle, la lésion de la paroi vasculaire est induite par un faisceau laser. Ce faisceau d'un diamètre de 2 micromètres, entraîne une lésion limitée de l'endothélium vasculaire (seulement 1 à 2 cellules sont détruites). La mise à nu du sous-endothélium, surface

thrombogène, amène l'adhésion des plaquettes par l'intermédiaire de la glycoprotéine Ib. Cette adhésion des plaquettes est suivie par leur activation. Elle forment des pseudopodes et sécrètent le contenu de leurs granules. Cette activation entraîne l'apparition de la glycoprotéine IIb-IIIa nécessaire à l'agrégation des plaquettes entre elles. Cela en présence du fibrinogène. Cette lésion est induite au niveau de la microcirculation mésentérique du rat. Elle est immédiatement suivie par la formation d'un thrombus (quelques secondes). Ce thrombus qui grossit rapidement, sous l'effet du flux sanguin, embolise avant de se former à nouveau.

10 **a : Dispositif de thrombose expérimentale.**

Un laser de type ARGON ION LASER 4W émet des photons identiques en phase, direction et amplitude. La longueur d'onde utilisée est de 514.5 nm. La puissance du faisceau laser est réglée manuellement à l'aide d'un potentiomètre à 120 mW. Le diamètre du faisceau à la sortie du tube laser est de 2 µm

15 Un microscope INVERSE Axiovert 10 (Zeiss,) dont le grossissement oculaire est de 10 et le coefficient de champ de 20.

Un obturateur permettant de régler le temps d'exposition du faisceau laser sur la préparation.

Une caméra DXC 107 P (Sony) disposant d'un contrôle automatique de la vitesse d'obturation selon la luminosité, ce qui permet une exposition stable.

20 Un moniteur TRINITRON COLOR VIDEO MONITEUR PVM 1442 QM 5(Sony). Il permet la visualisation de l'expérimentation. Ce moniteur possède un tube image à grille trinitron ultra - fine qui offre une définition d'image élevée.

**b : Animaux**

25 Cette étude nécessite des rats Wistar mâles. Leur poids est compris entre 250 et 300 gr.

**B/ Méthode**

L'évaluation de l'effet de la bétaine et ses dérivés a été mené conjointement à l'étude de deux molécules pharmacologiquement actives utilisées comme référence: l'acide acétylsalicylique et l'héparine.

30 Après une période de stabulation de 8 jours, les rats sont soumis à un jeûne de 12 heures. Ils sont ensuite anesthésiés.

Une laparotomie médiane est effectuée et le mésentère peut alors être dégagé, puis placé sur la platine du microscope. Trois artérioles et une veinule, d'un diamètre compris entre 15 et 25 µm, sont visualisées puis analysées pour chaque rat. Au cours de l'expérience, le mésentère sera régulièrement humidifié avec une solution isotonique de chlorure de sodium à 0.9% maintenue à 37° C, afin d'éviter son dessèchement. En effet, l'éclairement de la préparation est réalisé grâce à une lampe halogène puissante qui peut assécher le mésentère. La puissance du faisceau laser à la sortie du tube est de 120 mW, et ce faisceau est appliqué sur l'artériole pendant 1/15<sup>ème</sup> de seconde. Ces paramètres ont fait l'objet d'études préliminaires et ont été validés.

**EXEMPLES:**

45

L'efficacité d'une molécule dérivée de la bétaine sera étudiée ici:

- - La glycine bétaine dont la formule est  $(CH_3)_3N-----CH_2-----COOH$

**Exemple 1 : Evaluation du nombre d'embolies et de la durée d'embolisation après altération vasculaire par les tirs lasers**

|                                  | Nombre d'embolies | Durée d'embolisation (minutes) |
|----------------------------------|-------------------|--------------------------------|
| Témoin négatif (NaCl 0.9%)       | $5.33 \pm 0.58$   | $2 \pm 0$                      |
| Glycine bétaine 5mg/kg           | $2 \pm 0$         | $1 \pm 0$                      |
| Acide acétylsalicylique 100mg/kg | $1 \pm 1$         | $0,33 \pm 0,58$                |
| Héparine 2 mg/kg                 | $2,67 \pm 0,58$   | $1 \pm 0$                      |

5

Les résultats montrent que la glycine bétaine réduit d'une façon significative le nombre d'embolies et le temps d'embolisation après altération vasculaire par des tirs lasers.

**Exemple 2 : Evaluation du temps d'hémorragie provoquée**

10

|                                  | THP (secondes)     |
|----------------------------------|--------------------|
| Témoin négatif (NaCl 0.9%)       | $101.52 \pm 5.7$   |
| Glycine bétaine 5mg/kg           | $95 \pm 5$         |
| Acide acétylsalicylique 100mg/kg | $276,67 \pm 20,82$ |
| Héparine 2 mg/kg                 | $313,33 \pm 20$    |

Les résultats montrent que la glycine bétaine diminue significativement le temps d'hémorragie provoquée comparativement aux témoins positifs.

**Exemple 3: Evaluation de l'agrégation plaquettaire après altération vasculaire par les tirs lasers**

15

|                                  | Amplitude (Ohms) | Vélocité (Ohms/min) |
|----------------------------------|------------------|---------------------|
| Témoin (NaCl 0.9%)               | $13 \pm 1$       | $9 \pm 1$           |
| Glycine bétaine 5mg/kg           | $0.66 \pm 1.15$  | $1.66 \pm 1.15$     |
| Acide acétylsalicylique 100mg/kg | $2,33 \pm 2.08$  | $2 \pm 1$           |
| Héparine 2 mg/kg                 | $4.33 \pm 0.57$  | $2.66 \pm 0.50$     |

Les résultats montrent que la glycine bêtaïne diminue significativement les paramètres de l'agrégation plaquettaire comparativement aux témoins positifs.

5

**Exemple 4 : Evaluation de l'effet de la glycine bêtaïne vis à vis des cellules sanguines**  
**a/ Dénombrement des plaquettes**

|                                  | Nombre de plaquettes ( $10^9$ ) |
|----------------------------------|---------------------------------|
| Témoin négatif (NaCl 0.9%)       | 788 $\pm$ 30.14                 |
| Glycine bêtaïne 5mg/kg           | 804.67 $\pm$ 20.03              |
| Acide acétylsalicylique 100mg/kg | 855.33 $\pm$ 63.17              |
| Héparine 2 mg/kg                 | 777.33 $\pm$ 6.43               |

10

**b/ Dénombrement des globules blancs**

|                                  | Nombre des globules blancs ( $10^9$ ) |
|----------------------------------|---------------------------------------|
| Témoin négatif (NaCl 0.9%)       | 5.03 $\pm$ 0.20                       |
| Glycine bêtaïne 5mg/kg           | 4.43 $\pm$ 0.32                       |
| Acide acétylsalicylique 100mg/kg | 4.33 $\pm$ 1.00                       |
| Héparine 2 mg/kg                 | 5.80 $\pm$ 0.10                       |

15

**c/ Dénombrement des globules rouges**

|                                  | Nombre des globules rouges ( $10^9$ ) |
|----------------------------------|---------------------------------------|
| Témoin négatif (NaCl 0.9%)       | 6.56 $\pm$ 0.15                       |
| Glycine bêtaïne 5mg/kg           | 6.19 $\pm$ 0.25                       |
| Acide acétylsalicylique 100mg/kg | 6.15 $\pm$ 0.31                       |
| Héparine 2 mg/kg                 | 6.20 $\pm$ 0.20                       |

**Exemple 5 : Bilan biologique****5 a/ Temps de Quick**

|   | <b>TQ (secondes)</b> |
|---|----------------------|
| <b>Témoin négatif (NaCl 0.9%)</b>       | $17 \pm 1$           |
| <b>Glycine bétaine 5mg/kg</b>           | $16.9 \pm 1.05$      |
| <b>Acide acétylsalicylique 100mg/kg</b> | $18.33 \pm 2.08$     |
| <b>Héparine 2 mg/kg</b>                 | $29.50 \pm 0.52$     |

**10 b/ Temps de céphaline activée (TCA)**

|   | <b>TCA (secondes)</b> |
|---|-----------------------|
| <b>Témoin négatif (NaCl 0.9%)</b>       | $20.5 \pm 0.5$        |
| <b>Glycine bétaine 5mg/kg</b>           | $39.9 \pm 1.05$       |
| <b>Acide acétylsalicylique 100mg/kg</b> | $27.26 \pm 1.1$       |
| <b>Héparine 2 mg/kg</b>                 | $39.46 \pm 1.36$      |

**15****c/ Dosage du fibrinogène**

|   | <b>Fibrinogène (g/l)</b> |
|---|--------------------------|
| <b>Témoin négatif (NaCl 0.9%)</b>       | $2.45 \pm 0.19$          |
| <b>Glycine bétaine 5mg/kg</b>           | $1.7 \pm 0.1$            |
| <b>Acide acétylsalicylique 100mg/kg</b> | $2.19 \pm 0.33$          |
| <b>Héparine 2 mg/kg</b>                 | $2.13 \pm 0.25$          |



d/ Dosage de l'alpha.2-Antiplasmine ( $\alpha 2AP$ )

|                                  | $\alpha 2AP$ (%) |
|----------------------------------|------------------|
| Témoin négatif (NaCl 0.9%)       | $30.16 \pm 0.85$ |
| Glycine bétaine 5mg/kg           | $29.7 \pm 0.68$  |
| Acide acétylsalicylique 100mg/kg | $29.36 \pm 0.92$ |
| Héparine 2 mg/kg                 | $29.4 \pm 1.01$  |

## 5 e/ Dosage de l'Antithrombine 3 (AT3)

|                                  | AT3 (%)          |
|----------------------------------|------------------|
| Témoin négatif (NaCl 0.9%)       | $86 \pm 3$       |
| Glycine bétaine 5mg/kg           | $89.5 \pm 1.37$  |
| Acide acétylsalicylique 100mg/kg | $85.33 \pm 3.51$ |
| Héparine 2 mg/kg                 | $77.66 \pm 1.52$ |

10 **Commentaire :** Dans les études menées sur la base du modèle de thrombose expérimentale induite par lésion endothéliale, l'application d'un tir laser sur la paroi vasculaire provoque une destruction limitée de quelques cellules endothéliales. Cette destruction provoque l'activation du complexe plaquette-paroi vasculaire qui est immédiatement suivie par l'activation de l'hémostase plasmatique déclenchant ainsi le processus d'apparition d'une thrombose. Rappelons que ce modèle expérimental, largement utilisé par ailleurs (Seiffge D. et coll., 1989 ; Weichter W. et coll., 1983), est régulé par des inhibiteurs endogènes de l'agrégation plaquettaire : prostacycline et ses analogues (Maraganore J.M., 1993). D'où l'intérêt représenté par l'utilisation de ce modèle pour étudier les effets des produits de

15 contraste, car il permet l'observation directe de la formation du thrombus au site de la lésion vasculaire. Ces résultats expliquent l'apparition d'occlusions thrombotiques lors des angioplasties, surtout chez des patients, dont l'endothélium est déjà endommagé ou lésé. L'angioplastie coronaire cause une dénudation de l'endothélium, exposant le collagène, l'élastine et les cellules musculaires lisses au sang circulant, en analogie avec le modèle de thrombose expérimentale utilisé. Ainsi, l'apparition de nouveaux thrombi est plus élevée chez des patients présentant un infarctus du myocarde récent ou une plaque coronaire excentrique.

25

Le traitement avec la glycine-bétaine inhibe les complications thromboemboliques déclenchées par les tirs lasers. En effet, ce traitement avec la glycine-bétaine, avant les tirs lasers diminue l'adhésion des plaquettes et leur agrégation au niveau vasculaire.

Le traitement avec la glycine-bétaïne inhibe les complications thromboemboliques. En effet, ce traitement avec la glycine-bétaïne, avant l'induction de la thrombose, a montré un haut  
5 potentiel antithrombotique au niveau de tous les paramètres entrant en jeu dans le processus de la formation du thrombus. De plus, les résultats des paramètres biologiques démontrent la parfaite innocuité de la glycine-bétaïne qui contrairement aux produits de référence utilisés (aspirine et héparine), n'induit aucun effet secondaire (voir exemples ). Ces caractéristiques confèrent à la glycine-bétaïne , en plus de son efficacité démontrée, la particularité de pouvoir  
10 être administrée aux personnes à risque (diabétiques, hémophiles, allergiques). La glycine-bétaïne a également une activité antihémorragique (exemple 2). Le résultat expérimental de l'exemple 5, c, démontre un haut potentiel anti-inflammatoire de la glycine-bétaïne.

15 Il est à noter que, dans les mêmes conditions expérimentales, pour la conservation du sang la glycine-bétaïne est apparue comme possédant un haut pouvoir anti-coagulant comparativement à des tubes héparinés ou contenant de l'E.D.T.A. Les doses actives de glycine-bétaïne sont apparues entre 3 et 5 mg par tube à hémolyse. Ce résultat expérimental démontre un haut potentiel anticoagulant de la glycine-bétaïne. L'utilisation de la glycine-  
20 bétaïne ainsi que de la bétaïne et ses dérivés comme anticoagulants peut être revendiquée, tant pour le traitement du corps humain, in vivo, que pour la conservation du sang ex vivo.

25 Dans le cadre de la recherche sur les effets anti-thrombotiques et dans le souci de compléter l'approche de l'efficacité de la glycine-bétaïne, nous avons évalué l'effet de la glycine-bétaïne sur l'augmentation des risques thromboemboliques liés à l'utilisation des produits de contraste connus pour leurs pouvoirs prothrombotiques.

30 Deux produits de contrastes ont été étudiés : Hexabrix® (ionique) et Iopamidol ® (non ionique)

35

40

45

**Exemple 6 : Evaluation du nombre d'embolies et de la durée d'embolisation après altération vasculaire par les tirs lasers et administration des produits de contrastes.**

|  | Nombre d'embolies | Durée d'embolisation (minutes) |
|--|-------------------|--------------------------------|
| <b>Témoin négatif (NaCl 0.9%)</b>          | $5.33 \pm 0.58$   | $2 \pm 0$                      |
| <b>Hexabrix®</b>                           | $8 \pm 1$         | $3.67 \pm 0.58$                |
| <b>Iopamidol®</b>                          | $11.67 \pm 0.50$  | $6.33 \pm 0.52$                |
| <b>Glycine bétaïne 5mg/kg + Hexabrix®</b>  | $4 \pm 1$         | $2 \pm 0$                      |
| <b>Glycine bétaïne 5mg/kg + Iopamidol®</b> | $5.33 \pm 0.58$   | $2.33 \pm 0.48$                |

5

**Exemple 7 : Evaluation du temps d'hémorragie provoquée (THP)**

|  | THP (secondes)   |
|--|------------------|
| <b>Témoin négatif (NaCl 0.9%)</b>          | $101.52 \pm 5.7$ |
| <b>Hexabrix®</b>                           | $195 \pm 13.23$  |
| <b>Iopamidol®</b>                          | $128 \pm 7.64$   |
| <b>Glycine bétaïne 5mg/kg + Hexabrix®</b>  | $150 \pm 5$      |
| <b>Glycine bétaïne 5mg/kg + Iopamidol®</b> | $111 \pm 6.60$   |

10 **Exemple 8: Evaluation de l'agrégation plaquettaire après altération vasculaire par les tirs lasers**

|  | Amplitude (Ohms) | Velocité (Ohms/min) |
|--|------------------|---------------------|
| <b>Témoin négatif (NaCl 0.9%)</b>          | $13 \pm 1$       | $9 \pm 1$           |
| <b>Hexabrix®</b>                           | $6 \pm 1$        | $5.66 \pm 0.57$     |
| <b>Iopamidol®</b>                          | $15 \pm 2.64$    | $12.33 \pm 0.50$    |
| <b>Glycine bétaïne 5mg/kg + Hexabrix®</b>  | $2 \pm 1$        | $5 \pm 0$           |
| <b>Glycine bétaïne 5mg/kg + Iopamidol®</b> | $4.66 \pm 0.52$  | $9.33 \pm 0.8$      |

**Exemple 9 : Evaluation de l'effet de la glycine bêtaïne vis à vis des cellules sanguines**  
**a/ Dénombrement des plaquettes**

5

|                                     | Nombre plaquettes ( $10^9$ ) |
|-------------------------------------|------------------------------|
| Témoin négatif (NaCl 0.9%)          | $788.33 \pm 30.14$           |
| Hexabrix®                           | $620 \pm 10$                 |
| Iopamidol®                          | $585.67 \pm 23.54$           |
| Glycine bêtaïne 5mg/kg + Hexabrix®  | $669.67 \pm 7.37$            |
| Glycine bêtaïne 5mg/kg + Iopamidol® | $704.33 \pm 92.33$           |

**b/ Dénombrement des globules blancs**

|                                     | Nombre globules blancs ( $10^9$ ) |
|-------------------------------------|-----------------------------------|
| Témoin négatif (NaCl 0.9%)          | $5.03 \pm 0.20$                   |
| Hexabrix®                           | $2.96 \pm 0.21$                   |
| Iopamidol®                          | $3.06 \pm 0.35$                   |
| Glycine bêtaïne 5mg/kg + Hexabrix®  | $4.20 \pm 0.1$                    |
| Glycine bêtaïne 5mg/kg + Iopamidol® | $3.9 \pm 0.3$                     |

10

**c/ Dénombrement des globules rouges**

|                                     | Nombre globules rouges ( $10^9$ ) |
|-------------------------------------|-----------------------------------|
| Témoin négatif (NaCl 0.9%)          | $6.56 \pm 0.15$                   |
| Hexabrix®                           | $5.43 \pm 0.47$                   |
| Iopamidol®                          | $5.5 \pm 0.36$                    |
| Glycine bêtaïne 5mg/kg + Hexabrix®  | $6.5 \pm 0.15$                    |
| Glycine bêtaïne 5mg/kg + Iopamidol® | $6.6 \pm 0.19$                    |

**Exemple 10 : Bilan biologique****a/ Temps de Quick**

5

|  | <b>TQ (secondes)</b> |
|--|----------------------|
| <b>Témoin négatif (NaCl 0.9%)</b>          | $17 \pm 1$           |
| <b>Hexabrix®</b>                           | $24.13 \pm 1$        |
| <b>Iopamidol®</b>                          | $28.1 \pm 0.75$      |
| <b>Glycine bétaïne 5mg/kg + Hexabrix®</b>  | $16.36 \pm 0.56$     |
| <b>Glycine bétaïne 5mg/kg + Iopamidol®</b> | $17.83 \pm 1.2$      |

**b/ Temps de céphaline activé (TCA)**

|  | <b>TCA (secondes)</b> |
|--|-----------------------|
| <b>Témoin négatif (NaCl 0.9%)</b>          | $20.5 \pm 0.5$        |
| <b>Hexabrix®</b>                           | $49.3 \pm 1.85$       |
| <b>Iopamidol®</b>                          | $41.33 \pm 0.8$       |
| <b>Glycine bétaïne 5mg/kg + Hexabrix®</b>  | $25.4 \pm 0.61$       |
| <b>Glycine bétaïne 5mg/kg + Iopamidol®</b> | $22.4 \pm 0.7$        |

10

**c/ Dosage du fibrinogène**

|  | <b>Fibrinogène (g/l)</b> |
|--|--------------------------|
| <b>Témoin négatif (NaCl 0.9%)</b>          | $2.45 \pm 0.19$          |
| <b>Hexabrix®</b>                           | $1.49 \pm 0.18$          |
| <b>Iopamidol®</b>                          | $1.5 \pm 0.8$            |
| <b>Glycine bétaïne 5mg/kg + Hexabrix®</b>  | $1.7 \pm 0.09$           |
| <b>Glycine bétaïne 5mg/kg + Iopamidol®</b> | $1.9 \pm 0.1$            |

**d/ Dosage de l'alpha.2-Antiplasmine ( $\alpha$ 2AP)**

|  | <b><math>\alpha</math> 2AP (%)</b> |
|--|------------------------------------|
| <b>Témoin négatif (NaCl 0.9%)</b>          | 30.16 $\pm$ 0.85                   |
| <b>Hexabrix®</b>                           | 23.26 $\pm$ 1.06                   |
| <b>Iopamidol®</b>                          | 25.23 $\pm$ 0.95                   |
| <b>Glycine bétaïne 5mg/kg + Hexabrix®</b>  | 25.66 $\pm$ 0.64                   |
| <b>Glycine bétaïne 5mg/kg + Iopamidol®</b> | 28.13 $\pm$ 0.8                    |

5

**e/ Dosage de l'Antithrombine 3 (AT3)**

|  | <b>AT3 (%)</b>   |
|--|------------------|
| <b>Témoin négatif (NaCl 0.9%)</b>          | 86.3 $\pm$ 3     |
| <b>Hexabrix®</b>                           | 81.63 $\pm$ 0.66 |
| <b>Iopamidol®</b>                          | 70.6 $\pm$ 1.51  |
| <b>Glycine bétaïne 5mg/kg + Hexabrix®</b>  | 79.1 $\pm$ 1.05  |
| <b>Glycine bétaïne 5mg/kg + Iopamidol®</b> | 87.26 $\pm$ 0.9  |

10

**Commentaire :** L'administration des produits de contraste, diminue le nombre de globules blancs, le nombre de globules rouges et le nombre de plaquettes. Les produits de contraste interagissent avec les leucocytes, induisent la libération de leukotriènes, augmentent ainsi la perméabilité vasculaire et exercent un effet chimiotactique. De plus, les produits de contraste agissent sur le contrôle de l'expression de la P-selectine et provoquent l'adhésion des globules blancs à l'endothélium vasculaire. Il a été suggéré que l'utilisation des produits de contraste était associée avec l'apparition de thrombus d'importance variable en fonction du produit utilisé. Cela signifie que l'effet de ces produits sur la fonction plaquettaire est différent et que les résultats obtenus dans les études expérimentales doivent avoir une importance en Clinique Humaine.

25

Le traitement avec la glycine bétaine inhibe les complications thromboemboliques associées à l'utilisation des produits de contraste. En effet, ce traitement avec la glycine bétaine , avant ou pendant l'injection des produits de contraste, diminue l'adhésion des plaquettes et leur agrégation au niveau vasculaire . Ces résultats démontrent l'effet anti-thrombotique et thrombolytique de la glycine bétaine . Il est à noter que les produits de contraste peuvent avoir d'autres effets secondaires telle que la stase sanguine au niveau des cathéters et les lésions endothéliales causées par les procédures d'administrations elles-mêmes. La glycine bétaine remédie à ces effets indésirables.

15

### CONCLUSION

La glycine bétaine possède les mêmes, voire de meilleures, caractéristiques thérapeutiques que les anti-coagulants et les anti-agrégants étudiés (acide acétylsalicylique et l'héparine ), tout en ne présentant aucun effet indésirable.

Les performances supérieures en terme d'efficacité thérapeutique de la glycine bétaine par rapport à ces deux molécules ( acide acétylsalicylique et héparine ) incitent à la formulation d'un médicament ayant pour principe thérapeutiquement actif la glycine bétaine . Ce médicament revendiquant , pour le moins , l'indication anti-coagulant et l'indication anti-agrégant. L'efficacité de la glycine bétaine ne se limitant pas aux exemples décrits.

De plus le haut potentiel anticoagulant de la glycine bétaine , et selon les résultats expérimentaux , permet une conservation efficace du sang.

30

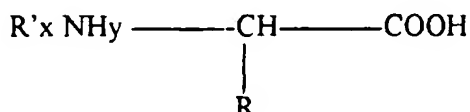
Ces résultats démontrés pour la glycine bétaine ainsi que ses propriétés thérapeutiques peuvent être revendiqués pour la bétaine et ses dérivés comme décrits et selon l'invention.

REVENDICATIONS

5

1. Utilisation comme agent thérapeutiquement actif, contre les atteintes physiopathologiques cardio-vasculaires et la pathogénie des maladies thromboemboliques et hémostatiques, un acide aminé mono, bi ou triméthylé à l'extrémité N-terminale et se représentant sous la formule générale:

10



15

OÙ:

R' = CH<sub>3</sub>

R = chaîne latérale carbonée

x = 1, 2 ou 3

20

si x = 1 =&gt; y = 2

si x = 2 =&gt; y n'existe pas

si x = 3 =&gt; Hy n'existe pas

25

2. Utilisation de la bétaine et ses dérivés comme agents thérapeutiquement actifs pour traiter les accidents de la circulation sanguine dans le corps humain.

3. La bétaine et ses dérivés pour leur usage thérapeutique comme agents anticoagulants.

4. La bétaine et ses dérivés pour son usage thérapeutique comme agents anti-agrégants.

5. Utilisation de la bétaine et ses dérivés comme agents anticoagulants pour la conservation du sang.

30

6. La bétaine et ses dérivés pour leur usage comme substances antithrombotiques.

7. Utilisation de la bétaine et ses dérivés en tant que substances thérapeutiquement actives dans le traitement des thromboses.

8. Utilisation de la bétaine et ses dérivés comme agents thrombolytiques.

9. Utilisation de la bétaine et ses dérivés comme agents prophylactiques pour réduire les risques thromboemboliques.

35

10. Utilisation de la bétaine et ses dérivés en tant que substances thérapeutiquement actives dans le traitement curatif et préventif des accidents cardio-vasculaires.

11. Utilisation de la bétaine et ses dérivés en tant que substances thérapeutiquement actives dans le traitement curatif et préventif des accidents de circulation sanguine dans le cerveau.

40

12. Utilisation de la bétaine et ses dérivés comme agents thérapeutiquement actifs contre l'athérosclérose.



13. Utilisation de la bétaine et ses dérivés en tant que substances thérapeutiquement actives pour contrecarrer les effets thromboemboliques induits par les produits de contraste.

5 14. Utilisation de la bétaine et ses dérivés selon les revendications 1, 2, 3 et 4 chez les sujets à risque hémorragique.

15. Utilisation de la bétaine et ses dérivés comme principe actif selon l'une quelconque des revendications 1 à 14 pour la préparation d'une composition ou d'un produit pour le traitement du corps humain.

10 16. Une composition galénique selon l'une quelconque des revendications 1 à 15, caractérisée en ce qu'elle contient une quantité efficace de bétaine ou d'un ou plusieurs de ses dérivés dans un support, véhicule ou excipient pharmaceutiquement acceptable.

15

20

25

30

35

